



BOLETIM TÉCNICO 6 – CDMA - 2017

NOVOS EXAMES NO CDMA:

PCR em tempo real quantitativo (qPCR) para *Leishmaniose visceral canina*.

A reação da polimerase em cadeia conhecida como PCR (*Polymerase chain reaction*) é uma técnica molecular que permite obter múltiplas cópias de uma sequência específica de ácido nucléico (DNA). Dentre as diferentes técnicas existentes a PCR em tempo real quantitativa (qPCR) apresenta maior sensibilidade que a técnica convencional, além de permitir quantificar a concentração de ácidos nucléicos do agente a ser pesquisado na amostra a ser avaliada, permitindo auxiliar ou substituir outras técnicas de diagnóstico como a imunistoquímica de pêlo obtida de borda orelha.

ORIENTAÇÕES GERAIS:

Tecidos recomendados: medula óssea, punção de linfonodos, pele incluindo borda de orelha e órgãos de forma geral.

Coleta de amostras para qPCR

Antes de cada coleta (medula óssea, pele e demais tecidos), deve-se realizar previamente, a assepsia e retirada de pêlos do local a ser puncionado.

Aspirado de medula óssea

Vários estudos demonstraram que a heparina e o heme são potentes inibidores da reação em cadeia da polimerase (PCR), de modo que os anticoagulantes recomendados para essas amostras são os ácidos etilenodiaminotetracético (EDTA) e citrato dextrose (ACD).

Material preparado pela profa. Josiane Tavares de Abreu – M.V. CRMV MG 5868, Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva. Doutorado em Microbiologia. Pós Doc em Ciência Animal. Docente PUC Minas.

**Responsável Técnico e Diretora Laboratório CDMA.
Rua Esmeralda, 767 – Prado – Belo Horizonte, Minas Gerais.
www.cdmalaboratorio.com.br / 31 25367900**



Deve-se aspirar a medula óssea (**300 uL**) e em seguida o material deve ser transferido para tubo de 1,5 mL com EDTA, novo e identificado.

O aspirado de medula óssea pode ser armazenado temporariamente por até 72 horas a 2 - 8 °C antes do processamento. Mas se possível, realize o congelamento assim que realizar a coleta.

Caso seja necessário armazenar por tempo superior a esse, devem-se remover os eritrócitos e congelar a amostra a -20°C (por até vários meses).

Deve-se atentar para a remoção dos eritrócitos, que podem liberar heme e inibir a reação de PCR.

Coleta de Pele e/ou outros tecidos

Coletar um fragmento de aproximadamente 5-6 mm da pele e/ou outro tecido do animal, após realizada a assepsia e retirada dos pêlos.

O material deve ser transferido para tubo de 1,5 mL limpo e identificado.

A amostra deve ser congelada e quando isso não for possível, recomenda-se que a amostra de tecido seja colocada em banho de gelo e transportada em gelo para melhor preservação dos ácidos nucleicos.

Transporte

Para extração de DNA, o tecido deve ser resfriado imediatamente e transportado ao laboratório em banho de gelo

Para dúvidas referentes a testes moleculares ou qualquer assunto referente a área técnica, dentre outros esclarecimentos contate-nos pelo setortecnico@cdmalaboratorio.com.br ou pelo telefone (31) 2536-7900.

Nosso contato geral é: faleconosco@cdmalaboratorio.com.br.

Material preparado pela profa. Josiane Tavares de Abreu – M.V. CRMV MG 5868, Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva. Doutorado em Microbiologia. Pós Doc em Ciência Animal. Docente PUC Minas.

**Responsável Técnico e Diretora Laboratório CDMA.
Rua Esmeralda, 767 – Prado – Belo Horizonte, Minas Gerais.
www.cdmalaboratorio.com.br / 31 25367900**